昆虫病原线虫对非生物胁迫的响应机制

曹翠玲[1], 刘　倩[1], 简　恒[1,*], 王金利[2]
(1. 中国农业大学植物病理系, 北京　100193; 2. 北京市林业保护站, 北京　100029)

摘要: 昆虫病原线虫是农林害虫生物防治中重要的生防因子之一。它对非生物胁迫的耐受能力决定着线虫在田间的个体生存及控制害虫效果。线虫对环境胁迫的响应是一个整体性的复杂过程, 体现在群体遗传、发育阶段、生理生化和抗逆相关基因的表达调控等不同层次、不同水平上。本文综述了昆虫病原线虫抗逆相关领域的主要研究进展, 重点介绍线虫响应非生物胁迫的生理生化机制和相关抗性基因的分离鉴定, 并对该研究领域发展趋势进行了讨论和展望, 期望为我国研究线虫抗逆机理提供一些新的信息。

关键词: 昆虫病原线虫; 非生物胁迫; 响应机制; 抗逆基因; 生防因子
中图分类号: Q965　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2009)03-0312-07

Response mechanisms of entomopathogenic nematode to abiotic stress

CAO Cui-Ling[1], LIU Qian[1], JIAN Heng[1,*], WANG Jin-Li[2] (1. Department of Plant Pathology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Forest Test Management and Quarantine Station of Beijing, Beijing 100029, China)

Abstract: Entomopathogenic nematodes are important biological control agents of insect pests. The tolerance capability of the nematodes to the abiotic stress may greatly affect the survival and performance in pest control in fields. Response of entomopathogenic nematodes to abotic stress is complex and involves the processes of variation of population genetic, life stage, biochemical and physiological changes, and differential expression of related genes. This paper reviews the recent research progress in response mechanisms of entomopathogenic nematodes to abiotic stress, mainly focusing on the achievements in identification and function analysis of tolerance-related genes of entomopathogenic nematodes. The trends of this research field are also discussed. We expect to provide some useful information for conducting similar research in China.

Key words: Entomopathogenic nematodes; abiotic stress; response mechanisms; tolerance-related genes; biological control agents

昆虫病原线虫(entomopathogenic nematodes, EPNs)是农林害虫生物防治中最重要的生防因子(biocontrol agents)之一, 对土栖和钻蛀性害虫有独特防治效果而受到广泛关注。昆虫病原线虫侵染期幼虫(infective juveniles)通过寄主昆虫的自然孔口或穿过表皮进入体内, 并在昆虫血腔中释放所携带的共生细菌, 造成昆虫患败血症而死(杨秀芬和杨怀文, 1998)。自1985年从澳大利亚引进大量离体培养昆虫病原线虫技术以来, 我国已成功用于对桃小食心虫 *Carposina niponensis*、小木蠹蛾 *Holcocerus insularis*、花生田蛴螬(peanuts grubs)、光肩星天牛 *Anophlophora glabripennis*、东北大黑鳃金龟 *Holotrichia diomphalia* 等多种林业害虫的防治, 防效达90%以上, 甚至100%(杨怀文和张刚应, 1989; 杨怀文, 1991; Han, 1994; 吕昌仁和冯善斌, 1995; 陈汉林, 1996; 黄金水和黄海清, 1997; 刘清浪和黄金水, 1999; 李俊秀等, 2007; 张国财等, 2007; 许艳丽等, 2008)。通常昆虫病原线虫对寄主昆虫的直接控制效果可持续2~3周(Grewal *et al*., 2006), 然后利用寄主进行自然增殖, 进而达到长期控制寄主昆虫种群的目的, 展现出较大的应用潜力。

昆虫病原线虫对害虫的控制效果主要决定于其田间适应能力。昆虫病原线虫的习居地——土壤条

基金项目: 北京市科技计划资助项目(D07050020040191)
作者简介: 曹翠玲, 女, 1979年生, 山西万荣人, 博士研究生, 从事昆虫病原线虫抗逆机制研究, E-mail: caocuiling1979@126.com
*通讯作者 Author for correspondence, E-mail: hengjian@cau.edu.cn
收稿日期 Received: 2008-10-14; 接受日期 Accepted: 2009-01-18

件易于随气候以及灌溉等田间农事操作而变化，形成局部干燥、高渗透压、缺氧等对线虫生存不利的极端环境。这就要求昆虫病原线虫对非生物胁迫(abiotic stress)具备较强的耐受能力，这些胁迫因子包括高渗透压、干燥、高温、低温、缺氧、紫外辐射等。受胁迫的线虫体内产生一系列生理生化反应，涉及到一系列相关基因的激活与沉默，最终体现为线虫对环境胁迫的耐受能力。这是一个错综复杂的网络式调控体系。

揭示昆虫病原线虫抗逆机理对充分发挥昆虫病原线虫田间的应用潜力具有重要意义。作者就近年来国内外对昆虫病原线虫响应非生物胁迫的生理生化和分子机制以及相关基因的分离鉴定等方面的研究进展进行了综述，期望为我国开展此类工作提供参考。

1　昆虫病原线虫抗逆能力的差异

昆虫病原线虫对不良环境的抵御能力，在不同种属间、同一种的不同地理种群间,甚至同一个体的不同发育阶段都存在显著差异。

昆虫病原线虫对环境胁迫表现出不同的耐受能力首先决定于遗传特性，不同种属的线虫表现出不同的胁迫耐受能力。Brown 和 Gaugler(1996)对异小杆科(Heterorhabditidae)和斯氏线虫科(Steinernematidae)线虫的冷冻耐受力进行研究后发现，经过相同条件的冷冻处理后，嗜菌异小杆线虫 *Heterorhabditis bacteriophora*、一种线虫 *Steinernema anomali* 和芫菁夜蛾线虫 *S. feltiae* 的存活率差异明显，分别为55.33%，73.59%和92.78%。小卷蛾斯氏线虫 *S. carpocapsae* 的侵染期幼虫对快速干燥的耐性比芫菁夜蛾线虫、格氏线虫 *S. glaseri* 和 *S. riobrave* 更强(Patel *et al*.,1997)。

同一种线虫在对不同生存环境的长期适应中，抗逆能力会发生较大变化而表现出与生存环境相适应的特征。从马来群岛含水量及盐分变化较大的东海岸砂性土壤分离到的 *Steinernema* spp. 和 *Heterorhabditis* spp. 比从中部潮湿壤土分离到的线虫其调节自身含水量的能力更强，更耐渗透压的变化(Piggott *et al*., 2000；Somasekhar *et al*., 2002)。从以色列半干旱地区分离得到的芫菁夜蛾线虫 IS-6 和 IS-15 品系比从位于温带的德国分离的 N8 品系更耐干燥(Solomon *et al*., 1999)。从美国北卡罗莱纳州和俄亥俄州分离到的小卷蛾斯氏线虫不同地理种群对高渗和缺氧胁迫的耐受能力差异可高达3倍(Somasekhar *et al*., 2002)。

就同一个体而言，昆虫病原线虫的侵染期幼虫比其他发育阶段抗逆能力更强。斯氏线虫一些种能够以带鞘的侵染期幼虫在没有寄主的土壤中存活8年之久(蒲蛰龙，1994)。侵染期幼虫又称耐受态幼虫(dauer juveniles, DJ)，全身包被有2龄期未蜕去的鞘，口紧闭，不取食，独立生活于昆虫体外，在找到合适的寄主前主要依靠体内储存物来抵抗并渡过不良环境。这一特殊发育阶段的线虫抗逆能力一方面来源于鞘的保护作用。另一方面，若线虫在这一阶段受到环境胁迫，即进入休眠状态(dormancy state)，待渡过不良环境之后，又可恢复正常活动完成生活史。

2　昆虫病原线虫对环境胁迫的生理生化响应

新环境的不适温度和干燥等胁迫条件会诱发昆虫病原线虫整体性的胁迫耐性，一旦这种整体性胁迫耐性响应被诱导产生，线虫将获得对低温、高温、高渗、干燥、紫外辐射以及 pH 值等大多数胁迫因子的耐受力(Yanase *et al*., 1999；Feng *et al*., 2006；Grewal *et al*., 2006)。其主要生理机制包括改变代谢酶活性、饱和脂肪酸转换为非饱和脂肪酸、累积海藻糖以及合成新同功酶等(林茂松等，1997；Grewal *et al*., 2006)。

陈松笔等(2000)研究受高渗胁迫脱水休眠的小卷蛾斯氏线虫的生理变化结果表明，受高渗胁迫脱水后的线虫酯酶活性降低，总糖和糖原含量降低，但是海藻糖含量升高，粗脂肪和脂肪酸含量保持不变。

2.1　海藻糖累积与温度耐受能力

海藻糖是一种重要的胁迫保护剂，在环境不良时对保持细胞结构完整性起主要作用。它对细胞的保护作用通过两种方式实现:一是通过稳定蛋白和其他生物结构、避免酶失活来抵抗逆境的损伤(Elbein *et al*., 2003)，二是通过氢键与生物膜相连，在干燥时通过维持膜的流动性来保护膜(Behm, 1997；Elbein *et al*., 2003)。在酵母中，海藻糖累积与脱水、冷冻、渗透压和乙醇刺激有关，因此海藻糖被认为是生物对胁迫反应的普遍指示剂。

Jagdale 和 Grewal(2003)研究了芫菁夜蛾线虫、*S. riobrave*、小卷蛾斯氏线虫的温度诱导、海藻糖累

积及对极端温度耐受能力三者之间的关系，这 3 种线虫具有严格的“可繁殖生态位温度范围（thermal reproductive niche breadth）”，分别是适低温（cold adapted）、适高温（warm adapted）、适中温（intermediate adapted）的典型代表。研究结果表明：在受到低温（5℃，2 d）和高温（35℃，1 d）诱导时 3 种线虫体内海藻糖的含量均表现不同程度上升。伴随着海藻糖累积，线虫对冷冻（-20℃，4 h）和/或高温（40℃，8 h）胁迫的耐受性得到不同程度提高。其中耐热能力较弱的适低温芫菁夜蛾线虫在诱导后其耐热能力得到提高，而耐冷能力弱的适高温线虫 *S. riobrave* 得到了更高的冷冻耐受力，适中温小卷蛾斯氏线虫对冷冻和高温的耐受力均得到明显提高。这一结果表明线虫体内积累海藻糖似乎更利于线虫拓展自身的生态位温度范围，与先前报道的研究结果相一致（Womersley，1990；陈松笔等，2000）。但二者的正相关性也不排除存在例外情况。

对秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 的几项研究认为，海藻糖对维持细胞膜完整性是必要的。但用 RNAi 方法将海藻糖合成酶基因和糖水解酶基因分别进行沉默后，线虫并未出现明显表型，但同时将二者沉默后，线虫体内海藻糖含量下降 90% 以上，即使如此线虫存活和发育并未受到影响（Pellerone *et al*.，2003）。这暗示仅海藻糖不足以维持脱水状态，还需要 LEA 的上调表达等其他进一步的适应性变化。酵母中海藻糖累积可提高细胞内蛋白稳定性，进而增加酵母的温度耐受性（Hottiger *et al*.，1994），这一证据为进一步揭示昆虫病原线虫海藻糖累积与线虫对胁迫的耐受力的相互关系提供了研究思路和线索。

2.2 不饱和脂肪酸含量变化与温度耐受能力

昆虫病原线虫在不同程度胁迫条件下的存活，一定程度上取决于其生物膜流动性的自我调节能力。磷脂中高浓度的不饱和脂肪酸可以增加膜的流动性。Fodor 等（1994）报道，小卷蛾斯氏线虫 Mexican 品系在 18℃ 下培养时比 25℃ 下体内磷脂中的不饱和脂肪酸含量高，同时细胞膜内的磷脂无序化程度也更高。Jagdale 等（1997b）的研究结论支持了 Fodor（1994）等的观点，他们将芫菁夜蛾线虫和小卷蛾斯氏线虫从 25℃ 下降到 5℃ 储存时总脂肪和磷脂中不饱和指标增加，并发现低温下总脂肪不饱和程度增加是因为多不饱和脂肪酸（polyunsaturated fatty acids）比例上升，同时饱和脂肪酸尤其是棕榈酸和硬脂酸含量下降。

2.3 代谢酶动力学改变与温度耐受能力

昆虫病原线虫是兼性好氧生物，有氧条件下依赖三羧酸循环，无氧条件下依赖延胡索酸途径相关联的糖酵解（Shih *et al*.，1996）。己糖激酶（hexokinase，HK）和 6-磷酸葡萄糖（glucose-6-phosphate dehydrogenase，G-6-PD）分别参与糖酵解和磷酸戊糖途径中的第一阶段。在低温下繁殖的线虫中发现了这两种酶的最低 *K*m（Michaelis-Menten constant）值（Jagdale and Gordon，1997a）。戊糖还原途径也曾在适低温的硬骨鱼中发现，一般认为这一途径用于提高脂肪和核酸合成。这说明了线虫可能改变了一些代谢酶的动力学特征来适应它们习居地的季节性温度变化。

2.4 新同工酶合成与温度耐受能力

在外界环境温度改变时，昆虫病原线虫通过合成一些必要代谢酶的新同工酶来适应它们所在环境中的季节性温度变化。

Jagdale 等（1998）的研究表明昆虫病原线虫在繁殖或储存时，苹果酸脱氢酶（malate dehydrogenase，MDH）、甘露糖-6-磷酸异构酶（mannose-6-phosphate isomerase，MPI）和葡萄糖磷酸变位酶（phosphoglucomutase，PGM）的同工酶电泳条带的带型受温度变化影响。芫菁夜蛾线虫在低温下合成这 3 种酶的同工酶；小卷蛾斯氏线虫在 25℃ 下合成 MDH 的 3 种同工酶，在 15℃ 下合成 PGM 的 1 种同工酶来适应低温。芫菁夜蛾线虫 NF 品系在 5℃ 下合成 MPI 的 3 种同工酶、10℃ 和 5℃ 下各合成 PGM 的 1 种同工酶（这两种温度下不是同一种同工酶）来适应低温。芫菁夜蛾线虫 Umeå 品系在 20℃ 合成 MPI 的 1 种同工酶、15℃ 下合成 MDH 的 1 种同工酶来适应温度变化。

3 昆虫病原线虫响应非生物胁迫的分子机制

长期以来，人们已经积累了很多昆虫病原线虫抗逆表型的资料，但迟迟未对其分子机制进行探索。近年来随着分子生物学技术的发展以及对秀丽隐杆线虫抗逆分子机制研究的深入，昆虫病原线虫抗逆相关基因和蛋白的分离鉴定也逐步展开。

3.1 抗逆基因的克隆与鉴定方法

基因功能的研究方法大致分为“正向遗传学（forward genetics）”和“反向遗传学（reverse

genetics)”两种手段。简言之，正向遗传学是从表型变化研究基因变化，反向遗传学则是从基因变化研究表型变化。由于昆虫病原线虫纯合子不易获得，依赖于正向遗传学手段、通过人工诱变获得抗逆突变体来研究基因功能的难度较大，因此目前昆虫病原线虫抗逆基因的研究主要依靠反向遗传学的手段。

3.2　昆虫病原线虫抗逆基因的分离鉴定

Gal 等(2001)自芜菁夜蛾线虫 IS-6 分离到的新基因在转录水平上对干燥胁迫表现出变化，其中糖原合成途径中限速酶——糖原合成酶(*sf-gsy*-1) mRNA 稳定态水平(steady-state level)的下调表明，干燥胁迫激发了从糖原合成向海藻糖合成的转变，这一转变至少部分是受到糖原合成转录阻遏的调控。

Gal 等(2003)首次将抑制消减杂交(SSH)技术应用于昆虫病原线虫抗逆 cDNA 文库的构建，得到芜菁夜蛾线虫 IS-6 侵染期幼虫受蒸发干燥胁迫应答的几个基因家族，利用干燥胁迫处理 8 h 和 24 h 的脱水线虫分别和未处理线虫进行了杂交，获得 92 个表达序列标签(ESTs)，其中与已知抗逆相关基因同源的基因包括:4 个拷贝的水胁迫相关蛋白基因 *Sf-LEA-1*、胁迫响应酶乙醛脱氢酶基因 *Sf-ALDH*、热激蛋白 40 基因 *hsp40*、大麦抗病信号必须的锌结合蛋白基因、与特殊胁迫响应有关的酪氨酸激酶基因、与将能量转运到线粒体相关的甘油激酶基因、与真核细胞热激响应相关的 *ubq-2*、酵母氧胁迫有关的谷胱甘肽过氧化物酶基因、胁迫时离子通道相关的胆酸钠转运子和水稻秧苗受干旱胁迫时上调表达的细胞色素 P450 基因、与秀丽隐杆线虫中未知功能的推定蛋白同源的 ESTs，以及 24 个在 GenBank 中未发现同源序列的新序列。对差异表达 ESTs 表达谱的鉴定结果表明:在芜菁夜蛾线虫 IS-6 侵染期幼虫脱水过程中，部分基因如 *sf-ALDH*、*hsp*40、锌结合蛋白基因、*ubq*-2 和甘油激酶基因在干燥 8 h 后都上调表达，而在干燥 24 h 后下调表达。*Sf-LEA-1*、细胞色素 P450 基因和谷胱甘肽过氧化物酶基因在干燥 8 h 后表达上升，24 h 后继续上升表达。

在胁迫相关基因中，*Sf-LEA-1* 和谷胱甘肽过氧化物酶基因的表达量最高。Solomon 等(2000)在芜菁夜蛾线虫 IS-6 品系中分离出一种受干燥诱导累积的热稳定新蛋白，该蛋白与秀丽隐杆线虫的 LEA 蛋白相似性达到 79%。LEA 蛋白是与水份胁迫相关的一个多家族蛋白，在成熟种子和受到干旱胁迫的高等植物组织中都有发现，其生物功能是在生物受到干燥胁迫时通过保护膜和蛋白的结构，或帮助折叠蛋白进行复性来避免细胞损害。

LEA 蛋白在生物体中组成一种对胁迫响应最显著的成分。*Ce-lea* 部分沉默可导致秀丽隐杆线虫滞育幼虫存活率显著降低，这证实了 LEA 蛋白对线虫胁迫应答的重要作用(Grewal *et al*., 2006)。

酵母双杂交实验证实了芜菁夜蛾线虫的 *sf-nap-1*(编码核小体组装蛋白基因)和 *sf-ck2*(编码阳离子激酶 2 基因)存在互作(Gal *et al*., 2005a)。核小体组装蛋白在真核生物中高度保守，并激活大量基因的转录(Shikama *et al*., 2000；Mosammaparast *et al*., 2002；Miyaji-Yamaguchi *et al*., 2003；Ohkuni *et al*., 2003)。黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的 *ck2* 通过磷酸化修饰调节 NAP-1 的降解和定位(Li *et al*., 1999)。线虫受干燥胁迫时 *sf-nap-1* 和 *sf-ck2* 的 mRNA 稳定态水平上调，说明这两种蛋白互作是芜菁夜蛾线虫受干燥胁迫时激活的信号转导通路中的一个步骤(Gal *et al*., 2005a)。

Sandhu 等(2006)利用 SMART 技术建立了 *H. bacteriophora* 侵染期幼虫的 cDNA 文库，测序结果显示，*H. bacteriophora* 侵染期幼虫至少存在 3 种与温度胁迫耐受相关基因。其中 *hsp4* 和 *hsp6* 属于 *hsp70* 家族，另外 1 种是超氧化物歧化酶基因 *sod-4*。

Tyson 等(2007)从受干燥胁迫的小卷蛾斯氏线虫中分离到 45 个上调表达的 ESTs，其中大多数响应渗透胁迫，但一般对热激和冷激不响应。这暗示线虫对干燥胁迫和高渗胁迫诱导的线虫脱水响应机制具有较高程度交汇(crosstalk)和重叠(overlap)，但与冷激和热激胁迫的响应机制存在差异。

Chen 等(2006)利用双向电泳(two-dimensional electrophoresis)和质谱分析(mass spectrometry analysis)等蛋白质组学研究手段研究了芜菁夜蛾线虫 IS-6 品系蒸发干燥胁迫和高渗干燥胁迫下的蛋白表达差异。分离到 10 个受蒸发干燥胁迫诱导表达的蛋白和受高渗胁迫诱导表达的 7 个蛋白，其中受蒸发干燥胁迫时有 3 个蛋白表达谱与高渗不同，包括 1 个表达丰度下降的蛋白和 2 个新蛋白。利用 MALDI-TOF 质谱图测定短肽的分子量，鉴定了 10 个干燥响应蛋白，其中对两种胁迫条件均响应的已知胁迫响应蛋白如 HSP60、辅酶生物合成蛋白、肌糖单磷酸化酶和延胡索酸裂解酶等。

Vellai 等(1999)在秀丽隐杆线虫 *hsp-16* 启动子

的控制下将海藻糖磷酸合成酶(TPS)转化芜菁夜蛾线虫。TPS 是海藻糖合成的关键酶，TPS 在芜菁夜蛾线虫体内的过表达会使转基因线虫成虫的渗透耐性和干燥耐性提高。Hashmi 等(1998)将秀丽隐杆线虫的 *hsp70A* 基因转入 *H. bacteriophora* HP88 品系，所获得的转基因线虫的耐热性显著提高。HSP 在生物体的胁迫应答中能促进变性蛋白的折叠、帮助消除和恢复被破坏蛋白，起到保护细胞的作用，这些研究表明通过转基因来提高昆虫病原线虫对环境的耐受力具有实践意义。

3.3 昆虫病原线虫的胁迫应答信号网络

自然界中线虫常同时受干旱、高渗、冷冻或高温等多种胁迫因子的共同作用，激活下游信号转导过程，逐渐活化胁迫应答机制，用于保护蛋白和膜的结构及功能。这要求线虫具有一个既高效又经济的胁迫应答网络来进行全面的综合响应。

对线虫抗逆基因分离鉴定的结果显示其胁迫应答的信号网络中包含两种网络信号的活化。一种是对不同胁迫因子应答中的共有组分，这可能是不同胁迫因子响应中共有的信号通路，也可能是不同信号通路进行交汇的“节点(node)”。如海藻糖合成相关基因、lea、hsp 等基因的表达受冷冻、干燥和高渗胁迫时均表达，可能是因为这 3 种胁迫条件均诱导线虫脱水而在体内引起相似的细胞破坏(Knight and Knight, 2001; Gal *et al*., 2005b)；另一种是某一胁迫因子应答的特异组分。如 *osr-1* 只对高渗胁迫响应，不受其他非生物胁迫的诱导(Solomon *et al*., 2004; Gal *et al*., 2005b)，对两种信号网络的深入解析，对于进一步有针对性地发挥昆虫病原线虫在特定环境下的生防效果具有深远意义。

4 结语及展望

尽管近年来对昆虫病原线虫的胁迫生理生化应答研究逐渐深入，但对于这些生理生化响应的分子机制仍缺乏深入了解。相对于复杂的基因调控网络“全景”，目前我们获取的多数证据仅是“零敲碎打”式的数据和信号转导途径。但分子生物学以及蛋白质组学技术上的新发展、秀丽隐杆线虫基因组测序的完成、生物信息学和基因技术的发展，尤其是 RNAi 技术以及转基因技术在秀丽隐杆线虫基因功能研究上应用的日趋成熟，由此建立的分子生物学技术和信息解读方法开始由模式系统向昆虫病原线虫过渡，这将为深入研究昆虫病原线虫胁迫耐受机制提供一个强有力的平台和发展契机。

参 考 文 献 (References)

Behm CA, 1997. The role of trehalose in the physiology of nematodes. *Int. J. Parasitol*., 27(2): 215 - 229.

Brown IM, Gaugler R, 1996. Cold tolerance of steinernematid and heterorhabditid nematodes. *J. Therm. Biol*., 21(2): 115 - 121.

Chen HL, 1996. Infectivity of *Steinernema carpocapsae* Beijing strain against 3 pest insects of pine. *Chin. J. Biol. Control*., 12(2): 96 - 97. [陈汉林, 1996. 小卷蛾线虫北京品系对马尾松三种害虫的致病效应. 中国生物防治, 12(2): 96 - 97]

Chen S, Glazer I, Gollo PN, Cash P, Argo E, Innes A, Stewart E, Davidson I, Wilson MJ, 2006. Proteomic analysis of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* IS-6 IJs under evaporative and osmotic stresses. *Mol. Biochem. Parasitol*., 145: 195 - 204.

Chen SB, Yang HW, Jiang SN, 2000. Studies on the biochemical characters of *Steinernema carpocapsea* BJ in anhydrobioses. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin*., 7(1): 30 - 34. [陈松笔, 杨怀文, 蒋书楠, 2000. 脱水休眠小卷蛾斯氏线虫的生化特性研究. 寄生虫与医学昆虫学报, 7(1):30 - 34]

Elbein AD, Pan YT, Pastuszak I, Carroll D, 2003. New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13(4): 17 - 27.

Feng SP, Han RC, Qiu XH, Cao L, Chen JH, Wang GH, 2006. Storage of osmotically treated entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *Insect Science*, 13: 263 - 269.

Fodor A, Dey I, Farkas T, Chitwood DJ, 1994. Effects of temperature and dietary lipids on phospholipid fatty acids and membrane fluidity in *Steinernema carpocapsae*. *J. Nematol*., 26(3): 278 - 285.

Gal TZ, Glazer I, Koltai H, 2003. Differential gene expression during desiccation stress in *Steinernema feltiae* IS-6. *J. Parasitol*., 89: 761 - 766.

Gal TZ, Glazer I, Sherman A, Koltai H, 2005a. Protein interaction of nucleosome assembly protein 1 and casein kinase 2 during desiccation response in the insect-killing nematode *Steinernema feltiae* IS-6. *J. Parasitol*., 91(3): 691 - 693.

Gal TZ, Glazer I, Koltai H, 2005b. Stressed worms: Responding to the post-genomics era. *Mol. Biochem. Parasitol*., 143(1): 1 - 5.

Gal TZ, Solomon A, Glazer I, Koltai H, 2001. Alterations in the levels of glycogen and glycogen synthase transcripts during desiccation in the insect-killing nematode *Steinernema feltiae* IS-6. *J. Parasitol*., 87(4): 725 - 732.

Grewal PS, Bornstein-Forst S, Burnell AM, Glazer I, Jagdale GB, 2006. Physiological, genetic, and molecular mechanisms of chemoreception, thermobiosis, and anhydrobiosis in entomopathogenic nematodes. *Biol. Control*, 38(1): 54 - 65.

Han RC, 1994. Advance of entomopathogenic *Steinernema* and *Heterorhabditis* nematode research in China. *Entomologia Sinica*, 1(4): 346 - 364.

Hashmi S, Hashmi G, Glazer I, Gaugler R, 1998. Thermal response of *Heterorhabditis bacteriophora* transformed with the *Caenorhabditis elegans* hsp70 encoding gene. *J. Exp. Zool.*, 281: 164 – 170.

Hottiger T, Virgilio CD, Hall MN, Boller T, Wiemken A, 1994. The role of trehalose synthesis for the acquisition of thermotolerance in yeast II. Physiological concentrations of trehalose increase the thermal stability of proteins *in vitro*. *Eur. J. Biochem.*, 219: 187 – 193.

Huang JS, Huang HQ, 1997. Study on the control capacity of 11 strains of nematodes on *Anoplophora chinensis*. *Forest Pest and Disease*, 2: 3 – 5. [黄金水，黄海清，1997. 昆虫病原线虫 11 个品系对星天牛控制能力的研究. 森林病虫通讯，2: 3 – 5]

Jagdale GB, Gordon R, 1997a. Effect of temperature on the activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase and hexokinase in entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 118 A(4): 1 151 – 1 156.

Jagdale GB, Gordon R, 1997b. Effect of temperature on the composition of fatty acids in total lipids and phospholipids of entomopathogenic nematodes. *J. Therm. Biol.*, 22: 245 – 251.

Jagdale GB, Gordon R, 1998. Variable expression of isozymes in entomopathogenic nematodes follows laboratory recycling. *Fundam. Appl. Nematol.*, 21: 147 – 155.

Jagdale GB, Grewal PS, 2003. Acclimation of entomopathogenic nematodes to novel temperatures: Trehalose accumulation and the acquisition of thermotolerance. *Int. J. Parasitol.*, 33(2): 145 – 152.

Knight H, Knight MR, 2001. Abiotic stress signaling pathways: Specificity and cross-talk. *Trends Plant Sci.*, 6(6): 262 – 267.

Li JX, Sun CM, Kang YJ, Ma J, 2007. Control effect of entomopathogenic nematodes to peanuts grubs. *Agrochemicals*, 46(1): 62 – 63. [李俊秀，孙春梅，康宇静，马骥，2007. 昆虫病原线虫对花生田蛴螬的防治效果. 农药，46(1): 62 – 63]

Li M, Strand D, Krehan A, Pyerin W, Heid H, Neumann B, Mechler BM, 1999. Casein kinase 2 binds and phosphorylates the nucleosome assembly protein-1 (NAP1) in *Drosophila melanogaster*. *J. Mol. Biol.*, 293: 1 067 – 1 084.

Lin MS, Liu XY, Wen L, Fang ZD, 1997. Observations on the overwintering of *Ditylenchus* destructor in sweet potato and its tolerance against pH and salt concentration. *Jiangsu J. Agric. Sci.*, 13: 36 – 39. [林茂松，刘新宇，文玲，方中达，1997. 甘薯茎线虫越冬虫态的类脂质体和线虫对 pH、盐浓度适应性的研究. 江苏农业学报，13: 36 – 39]

Liu QL, Huang JS, 1999. Biological control of cotton locust *Chondracris rosea rosea* and *Anoplophora chinensis* (Forster): Study on integrated control techniques of pests and diseases in the coastal protection forest of casuarinas. *Natural Enemies of Insects*, 21(3): 97 – 106. [刘清浪，黄金水，1999. 应用生物防治棉蝗及星天牛——沿海防护林木麻黄病虫害综合控制技术研究报告. 昆虫天敌，21(3): 97 – 106]

Lü CR, Feng SB, 1995. Study on control of *Steinernema feltiae* against *Apriona germari* Hope. *Hubei Forestry Science and Technology*, 2: 35 – 36. [吕昌仁，冯善斌，1995. 应用昆虫病原线虫防治意杨桑天牛的初步研究. 湖北林业科技，2: 35 – 36]

Miyaji-Yamagichi M, Kato K, Nakano R, Akashi T, Kikuchi A, Nagata K, 2003. Involvement of nucleocytoplasmic shuttling of yeast Nap 1 in mitotic progression. *Mol. Cell Biol.*, 23(18): 6 672 – 6 684.

Mosammaparast N, Ewart CS, Pemberton LF, 2002. A role for nucleosome assembly protein 1 in the nuclear transport of histones H2A and H2B. *EMBO J.*, 21: 6 527 – 6 538.

Ohkuni K, Shirahige K, Kikuchi A, 2003. Genome-wide expression analysis of NAP1 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 306: 5 – 9.

Patel MN, Perry RN, Wright DJ, 1997. Desiccation survival and water contents of entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae). *Int. J. Parasitol.*, 27(1): 61 – 70.

Pellerone FI, Archer SK, Behm CA, Grant WN, Lacey MJ, Somerville AC, 2003. Trehalose metabolism genes in *Caenorhabditis elegans* and filarial nematodes. *Int. J. Parasitol.*, 33: 1 195 – 1 206.

Piggott SJ, Perry RN, Wright DJ, 2000. Hypo-osmotic regulation in entomopathogenic nematodes: *Steinernema* spp. *and Heterorhabditis* spp. *Nematology*, 2(5): 561 – 566.

Pu ZL, 1994. Insect Pathology. Guangdong Science and Technology Press, Guangzhou. 465 – 497. [蒲蛰龙，1994. 昆虫病理学. 广州:广东科技出版社. 465 – 497]

Sandhu SK, Jagdale GB, Hogenhout SA, Grewal PS, 2006. Comparative analysis of the expressed genome of the infective juvenile entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 145: 239 – 244.

Shih JJM, Platzer EG, Thompson SN, Carroll Jr EJ, 1996. Characterization of key glycolytic and oxidative enzymes in *Steinernema carpocapsae*. *J. Nematol.*, 28(4): 431 – 441.

Shikama N, Chan HM, Krstic-Demonacos M, Smith L, Lee CW, Cairns W, La Thangue NB, 2000. Functional interaction between nucleosome assembly proteins and p300/CREB-binding protein family coactivators. *Mol. Cell Biol.*, 20: 8 933 – 8 943.

Solomon A, Bandhakavi S, Jabbar S, Shah R, Beitel GJ, Morimoto RI, 2004. *Caenorhabditis elegans* OSR-1 regulates behavioral and physiological responses to hyperosmotic environments. *Genetics*, 167(1): 161 – 170.

Solomon A, Paperna I, Glazer I, 1999. Desiccation survival of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*: Induction of anhydrobiosis. *Nematology*, 1(1): 61 – 68.

Solomon A, Solomon R, Paperna I, Glazer I, 2000. Desiccation stress of entomopathogenic nematodes induces the accumulation of a novel heat-stable protein. *Parasitology*, 121: 409 – 416.

Somasekhar N, Grewal PS, Klein MG, 2002. Genetic variability in stress tolerance and fitness among natural populations of *Steinernema carpocapsae*. *Biol. Control*, 23: 303 – 310.

Tyson T, Reardon W, Browne JA, Burnell AM, 2007. Gene induction by desiccation stress in the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* reveals parallels with drought tolerance mechanisms in

plants. *Int. J. Parasitol.*, 37: 763 – 776.

Vellai T, Molnár A, Lakatos L, Bánfalvi Z, Fodor A, Sáringer G, 1999. Transgenic nematodes carrying a cloned stress resistance gene from yeast. In: Glazer I, Richardson P, Boemare N, Coudert F eds. Survival of Entomopathogenic Nematodes. European Commission Publications, Brussels. 105 – 119.

Womersley CZ, 1990. Dehydration survival and anhydrobiotic potential. In: Gaugler R, Kaya HK eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boston. 117 – 137.

Xu YL, Qian XJ, Li CJ, Wang Y, Liu CZ, 2008. Biocontrol efficacy of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*-NJ against larvae of *Holotrichia diomphalia* Bates. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture*, 24(1): 106 – 109. [许艳丽, 钱秀娟, 李春杰, Yi WANG, 刘长仲, 2008. 昆虫病原线虫对东北大黑鳃金龟防治效果研究. 农业系统科学与综合研究, 24(1): 106 – 109]

Yanase S, Hartman PS, Ito A, Ishii N, 1999. Oxidative stress pretreatment increases the X-radiation resistance of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Mutat. Res.*, 426(1): 31 – 39.

Yang HW, 1991. Control of entomopathogenic nematodes against *Carposina niponensis*. *Chin. J. Biol. Control*, 3: 114. [杨怀文, 1991. 用昆虫病原线虫防治桃小食心虫. 中国生物防治, 3: 114]

Yang HW, Zhang GY, 1989. Infectivity of the nematode *Steinernema feltiae* to *Holcocerus insularis*. *Chin. J. Biol. Control*, 5(3): 97 – 100. [杨怀文, 张刚应, 1989. 芫菁夜蛾线虫对小木蠹蛾侵染能力的研究. 生物防治通报, 5(3): 97 – 100]

Yang XF, Yang HW, 1998. The pathogenic mechanism of entomopathogenic nematodes. *Chin. J. Biol. Control*, 14(4): 181 – 185. [杨秀芬, 杨怀文, 1998. 昆虫病原线虫的致病机理. 中国生物防治, 14(4): 181 – 185]

Zhang GC, Cheng G, Zhang SM, Yan L, 2007. Preliminary study of the control and prevention of *Anophlophora glabripennis* with insect pathogenic nematode in Harbin. *Forest By-Product and Specialty in China*, 89(4): 34 – 36. [张国财, 程功, 张淑梅, 颜丽, 2007. 哈尔滨市区利用昆虫病原线虫防治光肩星天牛初探. 中国林副特产, 89(4): 34 – 36]

（责任编辑:袁德成）